



Determinación del estado fisiológico de *Aspergillus brasiliensis* ATCC9642 para estudios de proteómica en fermentación en medio sólido

Daniel A. Salgado-Bautista¹, Gerardo Saucedo-Castañeda¹, Gerardo Gutiérrez-Sánchez² y Ernesto Favela-Torres¹.
(1) Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, C P. 09340, Distrito Federal, México. Fax (55) 58 04 65 54, e-mail: dark_dasb@msn.com, (2) CCRC, Athens, Ga, EEUU.

Palabras clave: *Aspergillus*, proteómica, fermentación en medio sólido

Introducción. Los hongos filamentosos son los microorganismos más utilizados en fermentación en medio sólido (1). Este tipo de fermentación presenta ventajas sobre el tradicional cultivo sumergido (2). El análisis proteómico de ambos tipos de cultivo puede dar información que permita explicar las diferencias entre ambos tipos de cultivo. Dado que el análisis proteómico es el resultado del estado fisiológico del cultivo en un momento preciso y bajo condiciones de cultivo bien definidas, es importante que la comparación de proteomas se haga en estados fisiológicos identificados con precisión. En este trabajo se definió el estado fisiológico del cultivo para el posterior análisis de proteoma; para ello, se utilizó el análisis respirométrico del cultivo en línea.

Metodología. Se utilizó la cepa de *Aspergillus brasiliensis* (*Aspergillus niger*) ATCC 9642(3) crecida en medio mínimo (4) con diferentes concentraciones iniciales de glucosa (en g/L): 30 100 y 180. Se usó agrolita como soporte inerte (relación de 11 mL de medio por 6 g de agrolita). Los cultivos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL bajo las siguientes condiciones: Aireación, de 20 a 40 mL de aire por min, 30°C. La producción de CO₂ se midió en línea con un metabolímetro.

Resultados. En la figura 1, se presenta los resultados obtenidos por respirometría. Al aumentar la concentración inicial de glucosa concentraciones, aumenta la producción de CO₂, la tasa máxima de producción de CO₂, el tiempo Lag y el tiempo de cultivo, mientras que la tasa específica de producción de CO₂, disminuye (Tabla 1).

A partir de los datos de la Fig. 1 se calcularon los parámetros cinéticos asociados (Tabla 1). La tasa máxima de producción de CO₂ ocurre en un intervalo de tiempo pequeño (entre 0.5 y 0.75 h) lo que permite definir con precisión el estado fisiológico del cultivo para los estudios del proteoma de *A. niger* en cultivos sólido y líquido.

Tabla 1. Parámetros considerados para el análisis de reproducibilidad.

Glucosa (g/L)	Producción de CO ₂		Tiempo Lag (h)	Tiempo de cultivo (h)
	Tasa máx. (mg/h g soporte)	Tasa esp. (1/h)		
30	3.6 ± 0.2	0.35 ± 0.02	18.9 ± 1.0	28.8 ± 1.5
100	10.4 ± 0.7	0.21 ± 0.01	20.4 ± 1.1	38.6 ± 1.5
180	20.9 ± 2.2	0.19 ± 0.01	27.6 ± 1.6	48.3 ± 2.5

La mayoría de los estudios de proteómica realizados en cultivo por lotes toman como referencia la fase de crecimiento exponencial o la de mantenimiento para el análisis proteómico; sin embargo, la duración de ambas fases es generalmente mayor al del tiempo de duplicación del cultivo; lo que involucra cambios fisiológicos y por consiguiente cambios en el proteoma.

Conclusiones. El análisis respirométrico en línea permite identificar con precisión el tiempo de muestreo del cultivo para análisis proteómico con base en la tasa máxima de producción de CO₂. Esta variable será usada para comparar los proteomas obtenidos en cultivos sólido y líquido.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca de posgrado de DSB (416886)

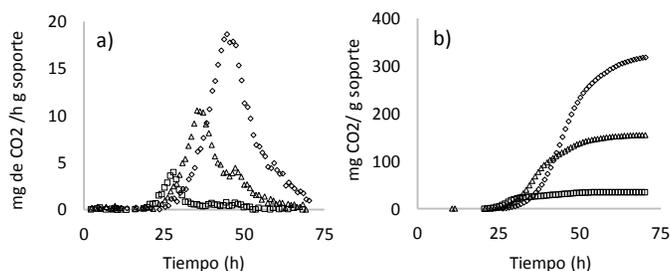


Fig. 1. Tasa de producción de CO₂ (a) y producción de CO₂ (b) durante la fermentación en medio sólido de *A. niger* con diferentes concentraciones iniciales de glucosa (en g/L): 30(□), 100(Δ) y 180(◇).

Bibliografía.

1. Biesebeke R. T, Ruijter R., Rahardjo Y., Hoogschagen M., Heerikhuisen M., Levin A., Driel K., Schutyser M., Dijksterhuis J., Zhu Y., Weben F., Vos W., van de Hondel K., Rinzema A., Punt P. (2002), *FEMS Yeast Research*. vol. (2), 245-248
2. Rimbault M. (1998), *EJB Electronical Journal Biotechnology*, vol. (1), 1-15.
3. Varga J., Kocsube S., Tóth B., Frisvad J., Perrone G., Susca A., Meijer M. y Samson R., (2007), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol (57), 1925-1932
4. Hill T. y Kafer W., (2001). *Fungal Genetics Newsletter*, Vol. (48), 20-21.